

胎児期メチル水銀曝露の神経行動学的影響 - 生後の環境に着目した解析 -

| | |
|-----|---|
| 著者 | 劉 忠民 |
| 号 | 2006 |
| 発行年 | 2003 |
| URL | http://hdl.handle.net/10097/22498 |

| | |
|-------------|---|
| 氏 名（本籍） | 劉 ^{リュウ} 忠 ^{チュウ} 民 ^{ミン} |
| 学 位 の 種 類 | 博 士（医 学） |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 2 0 0 6 号 |
| 学位授与年月日 | 平 成 15 年 3 月 24 日 |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 研 究 科 専 攻 | 東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻 |
| 学 位 論 文 題 目 | 胎児期メチル水銀曝露の神経行動学的影響－生後の環境に着目した解析－ |

| | | | | |
|-------------|--------|---|--------|---|
| | (主 査) | | | |
| 論 文 審 査 委 員 | 教授 佐 藤 | 洋 | 教授 山 鳥 | 重 |
| | 教授 八 尾 | 寛 | | |

論 文 内 容 要 旨

発生、発達過程にある中枢神経系はメチル水銀に対する感受性が高く、メチル水銀による健康影響では、胎児とその脳が最大の標的集団と標的臓器である。実験動物においても、神経行動学的な解析によって胎児期曝露により成長後の行動の偏倚が惹起されることが確認されている。その一方で、脳は柔軟で代償性に富む臓器であり、発達過程の環境によっては、胎児期に受けた傷害に対し防御系を作動させ、また失われた機能を代償することができると期待される。そこで、脳のそのような可塑性ともいえる可能性に着目し、メチル水銀の胎児期曝露実験を実施し、神経行動学的な解析を試みた。

第一の実験では、胎児期曝露、成長後曝露、さらにこの二つの重複曝露の影響を検討した。メチル水銀曝露に対して、脳がまったく無力なら胎児期曝露と成長後曝露は相加または相乗的に作用すると考え、一方でメチル水銀に対してなんらかの防御的なシステムが存在し、曝露でそのシステムが作動しうるなら、胎児期曝露は成長後曝露に対して抑制的に働くと仮定した。実験方法は、胎児期（妊娠 12–14 日目の 3 日間、毎日 Hg として 3 mg/kg、対照には生理食塩水投与）および成長後（13 週齢で 3 日間、毎日 12 mg/kg）にメチル水銀を経口投与し、オープンフィールド試験および水迷路試験による行動解析を行った。オープンフィールド試験は主に情動反応、探索活動を見るものであり、水迷路試験は空間学習を評価するものである。実験結果では、オープンフィールドにおける移動距離は胎児期曝露により短縮し、成長後曝露により延長する異なる傾向を示し、重複曝露群では胎児期曝露群の結果に近似していた。水迷路試験では胎児期曝露でプラットフォームまでの到達時間が延長し、成長後曝露群ではさらに延長する傾向を示したが、重複曝露群では相加的な現象は認められず胎児期曝露と近似する結果であった。病理組織学的解析では、成長後曝露により顕著な反応性アストロサイトーシスが認められたが、胎児期曝露もしくは重複曝露群では軽度であった。以上から、胎児期および成長後曝露の影響は単純な和として解釈できないこと、さらに胎児期曝露は成長後の二度目の曝露に対して現象としては防御的に作用することが示された。

第二の実験では、メチル水銀による胎児期曝露の後に豊かな環境下における飼育を実施し、メチル水銀曝露に起因する行動偏倚に対して飼育環境条件がいかなる影響を与えるかを解析した。マウスを豊かな環境下で飼育した場合、学習能力が向上し、海馬領域を中心にニューロン新生が刺激されること、さらにこの現象は離乳後の成熟過程でも見られることが報告されている。メチル水銀曝露に起因する何らかの機能障害が、発達過程で代償される可能性があり、その効果はマウスを豊かな環境下に置くことで増強されると期待された。実験方法は第一実験と同じ手順で胎児期曝露を実施したが、メチル水銀の曝露量を 4 mg/kg とした。離乳後の飼育条件は、1) 通

常の飼育ケージによる単頭飼育（単頭群）、2）大型ケージによる多頭飼育（多頭群）、3）大型ケージにおもちゃ、回転車、迷路などを設置した多頭飼育（多頭迷路群）の三条件とした。8週齢にてオープンフィールド試験、水迷路試験、24時間自発行動量測定による解析を行った。オープンフィールド移動距離は、多頭群または多頭迷路群で大きく延長し、メチル水銀曝露によっていずれの実験群でも減少する傾向が示されたが、飼育条件の影響に比べ軽度であった。24時間自発行動量の結果は、多頭群で増加、多頭迷路群でさらに増加、メチル水銀胎児期曝露でいずれの群も減少した。以上の結果では飼育条件と曝露の間に明確な複合影響は見出せなかった。一方、水迷路試験では飼育条件の影響は小さいものの、メチル水銀曝露によって単頭群、多頭群ともに到達時間が延長した。しかし多頭迷路群ではメチル水銀曝露の影響は観察されなかった。この結果から、離乳後の豊かな環境下における飼育によって、メチル水銀曝露の影響のうち、オープンフィールド試験で示された情動反応については明瞭な影響はないものの、水迷路試験で示された空間学習能力については改善が示唆され、低濃度メチル水銀の影響は離乳後の環境によって部分的に修飾されることが推測された。

発生、発達時期にある脳はメチル水銀曝露に対して極めて感受性が高いが、本研究の結果は脳が柔軟性に富む臓器であり、メチル水銀に対して防御的に作用し、また喪失した機能を代償する能力を有することを示すものである。そのメカニズムの分子論的な解析は今後の課題であるが、人間－環境系の視点からは、脳の発達を巡る多様な環境要因を総合的に考慮したメチル水銀中毒の研究が必要であることが示され、本研究はその一つの手がかりを与える意義があるものと考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

メチル水銀は、火山ガスに含まれる水銀が自然界でメチル化して生ずるなど、特に人為的汚染がなくても存在する。そして、生態系の食物連鎖によって人が食する魚介類に蓄積するので、魚介類を多食する集団は曝露のリスクが高い。

水俣病やイラクのメチル水銀中毒経験から、発生・発達過程にある胎児の中枢神経系はメチル水銀に対する感受性が高く、メチル水銀による健康影響では、胎児とその脳が最大の標的集団と標的臓器であると考えられている。しかし、脳は代償機能を持ち、胎児期の傷害によって失われた機能を代償することができるのではないかと、また防御系を作動させることができるのではないかと期待される。

そこで、メチル水銀の胎児期曝露による出生後の影響についても、そのような代償機能や防御系が作用するのではないかという仮説の下に、メチル水銀の胎児期曝露実験を実施したのが、本研究である。

まず、胎児期曝露と成長後曝露の影響を検討した。代償機能や防御系が作用しなければ、二つの異なる時期のメチル水銀曝露は相加（もしくは相乗）的に作用し、逆に防御系が作用するならば、胎児期曝露後の成長後曝露の影響は、成長後曝露単独の影響より小さいのではないかと仮定した。マウスに、妊娠 12-14 日目の 3 日間、毎日 Hg として 3mg/kg、成長後さらにメチル水銀を投与すると、オープンフィールド試験と水迷路試験で、胎児期曝露とほぼ同様の結果が認められ、成長後曝露の影響が見られなかった。病理組織学的解析でも、成長後のみの曝露により認められた顕著な反応性アストロサイトーシスは、胎児期曝露の後に成長後曝露した群では軽度であった。したがって、胎児期曝露による出生後の行動への影響は見られるものの、成長後の曝露に対して防御作用が存在することが示された。

次に、「豊かな環境」における成長への影響を検討した。すなわち、胎児期のメチル水銀曝露に起因する機能障害が、豊かな環境における発達過程によって代償され得るとの仮説で実験を行った。

胎児期にメチル水銀曝露し、離乳後の飼育条件を、1) 単頭飼育（単頭群）、2) 大型ケージによる多頭飼育（多頭群）、3) 大型ケージに回転車、迷路などを設置した多頭飼育（多頭迷路群）の三条件とし、オープンフィールド試験、水迷路試験、24 時間自発行動量測定を行った。その結果オープンフィールド試験と 24 時間自発行動量では、飼育条件とメチル水銀曝露の有無の影響が認められたが、水迷路試験では、メチル水銀曝露による成績の低下を飼育条件が代償する、すなわちメチル水銀曝露によるプラットホームへの到達時間の延長が、メチル水銀曝露を受けた多頭迷路群では見られなかった。この結果は、離乳後の豊かな環境が、低濃度メチル水銀の影響を改善することを示したと考えられる。

これらの研究は、発生、発達時期にある脳はメチル水銀曝露に感受性が高いが、また柔軟性に富み、後のメチル水銀曝露に対して防御的に作用したり、またいったん喪失した機能を生後の環境が代償しうることをはじめて示したものである。その成果は、今後の環境汚染物質の胎児期曝露の生後の影響の研究を継続する上で、非常に重要な視点を提供するものと言え、博士の学位を授与するに値するものである。